刺梨多糖提取物对小鼠Ⅱ型糖尿病的干预研究

伍 勇[1]，韦艾骥[1]，杨 堃[1]，李金桂[1]，董思思[1]，刘大利[1]，侯春兰[1]，

刘红玲[1,2]，程 驰[1,2]，薛飞龙[1,2]，刘松青[1,2*]

（1. 成都师范学院，化学与生命科学学院，成都 611130；

2. 特色园艺生物资源开发与利用四川省高校重点实验室，成都 611130）

摘 要：为研究刺梨多糖（Rosa roxbunghii Tratt polysaccharide, RRTP）与刺梨不溶性膳食纤维（Rosa roxbunghii Tratt insoluble dietary fiber, RTIDF）在降血糖功能上是否存在协同作用，该文对 RRTP 和 RTIDF 进行提取、分离和纯化，通过体外实验与体内小鼠 II 型糖尿病的干预实验，测定其抗氧化、降血糖活性，分析体内降血糖功能与小鼠肠道菌群结构关系。结果表明：（1）体外实验发现 RRTP 有较好的自由基清除力，能对α-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶起显著抑制作用，IC_{50}分别为 0.293、4.251 mg·mL^{-1}，而 RTIDF 仅表现对α-淀粉酶活性具有一定的抑制活性；（2）刺梨多糖提取物干预模型小鼠后，逆转了肥胖小鼠继续消瘦的趋势，与 CK 组（生理盐水）相比，RTIDF 和 RRTP+RTIDF 小鼠的血糖水平显著下调，血清中过氧化氢酶（catalase, CAT）活力明显增强，RRTP+RTIDF 组优于 RTIDF 组；（3）RRTP 和 RTIDF 干预可降低肝脏的炎症因子，缓解细胞肿胀程度，增加盲肠的吸收细胞数目，恢复肠壁黏膜层；（4）分析肠道菌群发现，RTIDF、RRTP 可降低拟杆菌门与厚壁菌门的比例，增加醋酸杆菌等有益菌的种群丰度，RTIDF 对于种群的调节作用更加显著。因此，综合体外降糖模拟与体内干预结果，RRTP 与 RTIDF 在糖尿病小鼠的血糖干预中具有一定的协同作用，或可共同作为改善 II 型糖尿病的干预剂。

关键字：刺梨多糖，膳食纤维素，分离纯化，II 型糖尿病，血糖干预

中图分类号：R285.5　　　　**文献标志码：**A　　　　**文章编号：**

Intervention study of roxburgh rose polysaccharide extract on type Ⅱ diabetes in mice

WU Yong[12], WEI Aiji[1], YANG Kun[1], LI Jingui[1], DONG Sisi[1], LIU Dali[1], HOU Chunlan[1], LIU Honglin[1,2], CHENG Chi[1,2], XUE Feilong[1,2], LIU Songqing[1,2*]

(1. *Chengdu Normal University, College of chemistry and Life Sciences*, Chengdu 611130, China;

2. *Sichuan Provincial Key Laboratory for Development and Utilization of Characteristic Horticultural Biological Resources*, Chengdu 611130, China)

基金项目：成都师范学院校级科研项目（CS18ZA02），四川省科技计划（2021JDRC0123）；成都师范学院"质量工程"项目(2022JG10；2021-2023)；年四川省高等教育人才培养质量和教学改革项目（JG2021-1376)；成都师范学院专项科研项目(ZZBS2020-13) [Supported by Research Project of Chengdu Normal University (CS18ZA02), Sichuan Science and Technology Program（2021JDRC0123）；"Quality Engineering" Project, Chengdu Normal University, 2022JG10; Talents Training Quality and Teaching Reform Project of Higher Education in Sichuan Province（JG2021-1376）; Special research project of Chengdu Normal University (ZZBS2020-13)]。

第一作者：伍勇（1990-），博士研究生，实验师，研究方向为食品化学与营养代谢，（E-mail）083040@cdnu.edu.cn。

*通信作者：刘松青，博士，教授，研究方向为微生物资源与生物技术，（E-mail）songqingliu@cdnu.edu.cn 。

Abstract: To investigate the synergistic effect of *Rosa roxbunghii* Tratt polysaccharide（RRTP）and rosa roxbunghii tratt insoluble dietary fiber（RTIDF）on hypoglycemic function. In this study, RRTP and RTIDF were extracted, isolated and purified, the antioxidant and hypoglycemic activities of polysaccharides were measured by in vitro experiment and the relationship between hypoglycemic function and intestinal microbiota structure in mice was analyzed in vivo intervention experiment of type Ⅱ diabetes in mice. The results showed that: (1) RRTP had good free radical scavenging ability in vitro, and could significantly inhibit α-glucosidase and α-amylase activities with IC_{50} of 0.293 and 4.251 mg·mL^{-1}, respectively. RTIDF only showed certain inhibitory activity on α-amylase activity. (2) After the intervention of the extractive in the model mice, the tendency of the obese mice to continue to lose weight was reversed. Compared with CK group, the blood glucose level of RTIDF and RRTP+RTIDF mice was significantly down-regulated, and the activity of CAT enzyme in serum was significantly enhanced. RRTP+RTIDF group was superior to RTIDF group. (3) In addition, the extract intervention could reduce the inflammatory factors in the liver, relieve the degree of cell swelling, increase the number of absorbing cells in the cecum, and restore the intestinal wall mucosal layer. (4) Further analysis of intestinal flora showed that RTIDF and RRTP could reduce the proportion of bacteroidetes to firmicutes, increase the abundance of beneficial bacteria such as acetobacter, but RTIDF had more significant regulation effect on the population. Therefore, based on in vitro hypoglycemic simulation and in vivo intervention results, RRTP and RTIDF have a certain synergistic effect on glucose intervention in diabetic mice, it may be used together as an intervention to improve type II diabetes.

Key words: *Rosa roxbunghii* Tratt polysaccharide, dietary cellulose, isolation and purification, type II diabetes, blood glucose intervention

II 型糖尿病作为现代人群高发代谢性疾病，严重威胁着人类的生命健康。常用降糖药物虽有较好效果，但仍存在副作用（刘涛等，2021）。近年来，随着研究的深入，来源于天然植物且具备降血糖活性的多糖与膳食纤维因其毒性小、活性高等优点备受人们的关注（杨江涛，2008）。

刺梨(*Rosa roxburghii* Tratt)作为药食同源的优质材料，富含多糖、膳食纤维素等天然营养成分。已有研究表明刺梨多糖提取物具有显著的体外抗氧化活性和降血糖活性，可防止餐后血糖水平升高（王振伟等，2021）；刺梨多糖（RRTP）在体外表现出一定的抗氧化活性，能对 1, 1−二苯基−2−三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基起到明显的清除作用，具备一定的 Fe^{3+}还原力（付阳洋等，2021）；RRTP 还能够显著抑制α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶活性，从而调节血糖水平（陈庆等，2019；周笑犁等，2020）；通过动物实验发现，RRTP 可显著降低糖尿病小鼠的体重, 也能够显著提高小鼠抗疲劳、提高小鼠的免疫能力（汪磊，2019）；张潘等（2022）研究发现 RRTP 可显著降低 NAFLD 诱导的小鼠回肠炎症因子和氧化应激水平，改善脂质代谢紊乱状况，使回肠结构形态趋向于正常水平，减少隐窝病变，保护肠道屏障。此外，刺梨不溶性膳食纤维（RTIDF）也被证实具有多种功能特性，在体外具有葡萄糖吸附能力和α-淀粉酶抑制能力（郑佳欣，2020）；张想等（2021）研究发现经过平菇发酵刺梨果渣所得膳食纤维的持水力、持油力和膨胀力有所提高，且具有良好的润肠通便作用。但在动物体内 RTIDF 的降血糖功能还需要进一步研究。目前对 RRTP 和 RTIDF 的生理功能已有较多研究，而 RRTP 与 RTIDF 在降血糖功能上是否具有协同作用，还有待研究证实。

因此，该文通过体外降糖模拟实验和体内动物干预实验，以 II 型糖尿病模型小鼠为实验对象，从体重变化、血糖水平、血清中过氧化氢酶含量等生理指标和小鼠肠道菌群特征的变化, 以期探讨:（1）RRTP 和 RTIDF 在降血糖功能上是否具有协同作用?（2）刺梨多糖提取物干预与糖尿病小鼠肠道菌群的关系。（3）RRTP 和 RTIDF 是否

能共同作为血糖调节的干预剂?

1 材料与方法

1.1 材料

刺梨干果，购自贵州定敏子食品有限公司；昆明种小鼠，体重 18~22g，SPF 级，购自四川达硕科技有限公司，生产许可证号：SCXK（川）2020-030；乙醇、氯仿、正丁醇、PBS 缓冲液；抗坏血酸（Vitamin C, VC）（国药集团化学试剂有限公司）；AB-8 大孔树脂（苏州凯胜仪器有限公司）。

1.2 实验方法

1.2.1 刺梨多糖的制备

采用传统水提法。料液比 1∶30 (g∶mL)，提取温度 95 ℃，搅拌提取 2 h，重复提取 1 次，得到刺梨粗多糖液。采用 Sevage 试剂脱蛋白 10 次后，通过 AB-8 大孔树脂对多糖液进行脱色，抽滤，收集滤液。加入无水乙醇至乙醇体积分数达到 40%，过夜醇沉（4 ℃）后离心得到 40%多糖组分；继续向上清液中添加无水乙醇至体积分数达到 60%，过夜醇沉离心得到 60%多糖组分，冷冻干燥后即得到两种组分多糖，分别命名为多糖-A（RSPs-60）、多糖-B（RSPs-40）。

1.2.2 刺梨不溶性膳食纤维的制备

采用酶提取法（王曦璠等，2019）。向刺梨样品粉末中加入 85%乙醇 500 mL，进行脱糖处理，冷冻干燥，粉碎备用。取刺梨样品粉末，加入 MES-TRIS 缓冲液（料液比 1∶40（g∶mL），PH 8.2)，加入α-淀粉酶、蛋白酶、淀粉葡萄糖苷酶去除刺梨中的非膳食纤维物质。用石油醚进行脱脂处理后，多次离心得到残渣，干燥即得到刺梨不溶性膳食纤维（RTIDF）。

1.2.3 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶抑制活性测定

取制得的 RRTP 和 RTIDF 样品，用 PBS 缓冲液进行稀释，分别配置系列浓度的多糖样品溶液（屠洁，2015）。

α-淀粉酶抑制活性测定：样品管（样品+ α-淀粉酶溶液）、样品对照管（样品+PBS 缓冲液）、空白对照管（PBS 缓冲液+ α-淀粉酶溶液）。取上述各样品 150 µL 加入到试管中，先后加入 150 µL 的α-淀粉酶溶液、150 µL 1%淀粉溶液充分反应（37 ℃恒温水浴 30 min），反应完全后加入蒸馏水进行稀释，于 520 nm 处测定吸光度。样品对照管用 PBS 缓冲液代替酶溶液，空白对照管用 PBS 缓冲液代替多糖溶液，空白管为 PBS 缓冲溶液，计算公式见下方。

α-葡萄糖苷酶抑制活性测定：与上述实验相同，取不同质量浓度的样品 150 µL 加入试管中，先后加入分 150 µL 的α-葡萄糖苷酶溶液、100 µL pNPG 溶液充分反应（37 ℃恒温水浴 30 min）后于 400 nm 处测定吸光度。按公式计算α-淀粉酶抑制率。

抑制率（α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶，%）$=1-\frac{(B_i-B_j)}{(B_1-B_0)}\times 100\%$

式中:B_i为样品溶液+酶溶液吸光度值；B_j为样品溶液+PBS 缓冲溶液吸光度值；B_1为 PBS 缓冲溶液+酶溶液吸光度值；B_0为 PBS 缓冲溶液吸光度值。

1.2.4 糖尿病小鼠的体内实验

将 40 只昆明种小鼠（全为雄性）随机取 10 只作为正常组，剩余 30 只作为模型组通过高脂饮食和腹腔注射 STZ 诱导糖尿病糖代紊乱模型，诱导 6 周。测得小鼠空腹血糖水平持续高于正常血糖范围（3.9 ~ 6.1 mmol·L^{-1}），

且出现明显糖脂代谢紊乱症状（如：活动减少、多食、多尿等）则建模成功（潘秋等，2010），将模型小鼠分为3组，每组10只。A组按600 mg·kg^{-1}的剂量灌胃RTIDF颗粒混悬液、B组按600 mg·kg^{-1}的剂量灌胃RRTP-RTIDF复合液（RRTP∶RTIDF=1∶2，*V*∶*V*）作为干预组，CK组（模型小鼠）灌胃等剂量的生理盐水作为对照组，连续灌胃30 d。记录建模过程中的小鼠日摄食量及体重体征变化；观测各组小鼠前、后空腹血糖、血清中CAT酶活力水平情况；实验结束时，解剖取出各组小鼠肝脏、盲肠进行组织病理学观察和肠道菌群结构测定。

1.2.5　其他指标测定

1.2.5.1　DPPH·清除率的测定

两种不同浓度梯度的多糖样液，分别取0.1 mL于试管中，加入3.9 mL 3.0×10^{-2} mg·mL^{-1}的DPPH-甲醇液，混匀后避光静置20 min，于517nm处测定其吸光值（A_i）；以甲醇为空白对照组（A_0）；以VC作为参照组（冯燕茹等，2019）。

$$\text{DPPH·清除率}(\%)=\frac{(A_0-A_i)}{A_0}\times 100\%$$

式中：A_i为多糖样液吸光值；A_0为空白对照液吸光值。

1.2.5.2　Fe^{3+}还原力的测定

两种不同浓度梯度的多糖样液，分别加入2.5 mL 0.2 mol·L^{-1} PBS缓冲液（PH 6.6）、2.5 mL铁氰化钾溶液（1%）混合均匀，50℃水浴20 min。加入三氯乙酸溶液（10%）终止反应。加入蒸馏水和氯化铁（0.1%）混合均匀，在700 nm下测吸光值，并以VC作为参照组（宋珅等，2014）。

1.2.5.3　血糖、血清CAT酶活力测定

灌胃第30 d，将各组小鼠禁食12 h，剪尾取血，空腹血糖、血清中CAT均参考试剂盒方法测定。

1.2.5.4　组织病理学观察

解剖取出各组小鼠肝脏、盲肠进行石蜡包埋，于切片机上切片，将切下的石蜡切片固定在载玻片上，于37 ℃下烘干，用苏木精-伊红染色(H & E染色)。染色完成后分别用乙醇、二甲苯进行脱水和透明切片，用中性树胶封片后进行显微观察和图像信息采集。

1.2.5.5　肠道菌群分析

小鼠粪便中DNA的提取和肠道菌群的检测参考文献中的方法（汪磊，2019）。委托上海欧易生物医学科技有限公司完成建库。

1.2.6　数据分析方法

各待测样品进行多次重复检测，用Excel表格进行数据统计，采用SPSS数据分析软件进行显著性方差分析以及多重比较，分析结果图形采用GraphPad Prism 8制作。

2 结果与分析

2.1　RRTP抗氧化活性测定结果

以VC作为对照（陈庆等，2019），两种多糖化合物的抗氧化活性分析（Fig.1），在样品浓度为0.05~0.75 mg·mL^{-1}范围内，随样品浓度升高，DPPH·清除率逐渐增强，多糖A（RSPs-60）的自由基清除率略高于多糖B（RSPs-40）；在样品浓度为100~500 μg·mL^{-1}范围内，多糖A（RSPs-60）和多糖B（RSPs-40）表现出一定的还原能力，但随浓度增加还原能力上升趋势较小，远低于VC对Fe^{3+}的还原能力（付阳洋等，2021），基于此结果，选

择多糖 A（RSPs-60）进行后续小鼠体内实验。

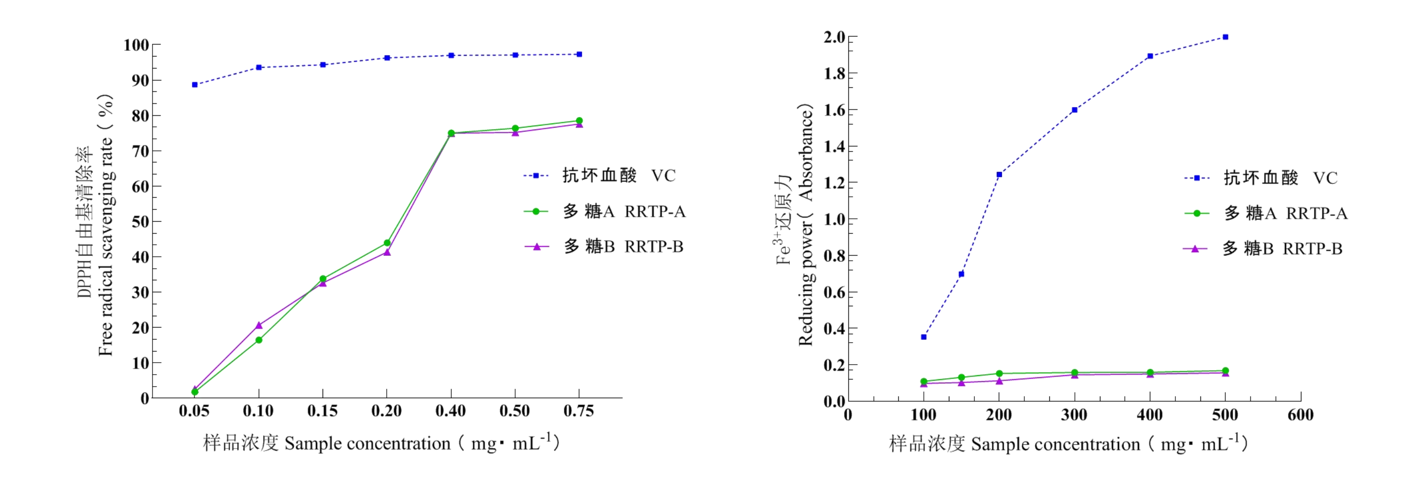


图 1 样品浓度与自由基清除、还原性的关系

Fig.1 The relationship between sample concentration and free radical scavenging and reducibility

2.2 体外降血糖实验结果

2.2.1 RRTP 体外降血糖实验

在本实验中，RRTP 对α-淀粉酶和α-葡萄糖苷酶的抑制作用随着浓度的升高而增加（Fig.2），IC_{50} 值分别为 4.251 mg·mL^{-1} 和 0.293 mg·mL^{-1}。

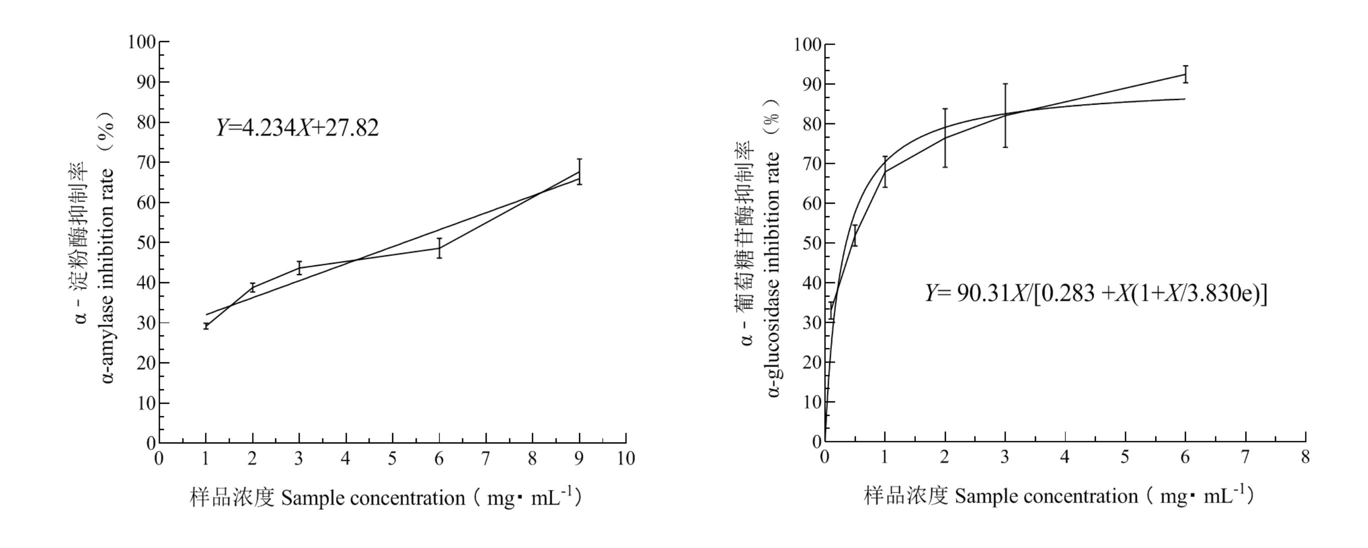


图 2 RRTP 对α-淀粉酶和α-葡萄糖苷酶的抑制率

Fig.2 Inhibitory rate of RRTP on α-amylase and α-glucosidase

2.2.2 RTIDF 体外降血糖实验

在本实验中，RTIDF 对α-淀粉酶的抑制作用在一定浓度区域随着浓度升高而增加（Fig.3）。在本实验中当浓度达到 1.5~2.0 mg·mL^{-1} 时，抑制效果逐渐趋于稳定，但 RTIDF 对α-葡萄糖苷酶的抑制未有显著效果。

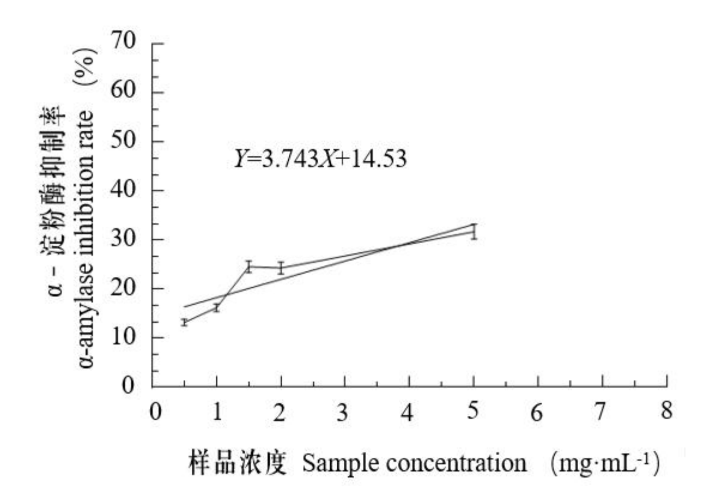


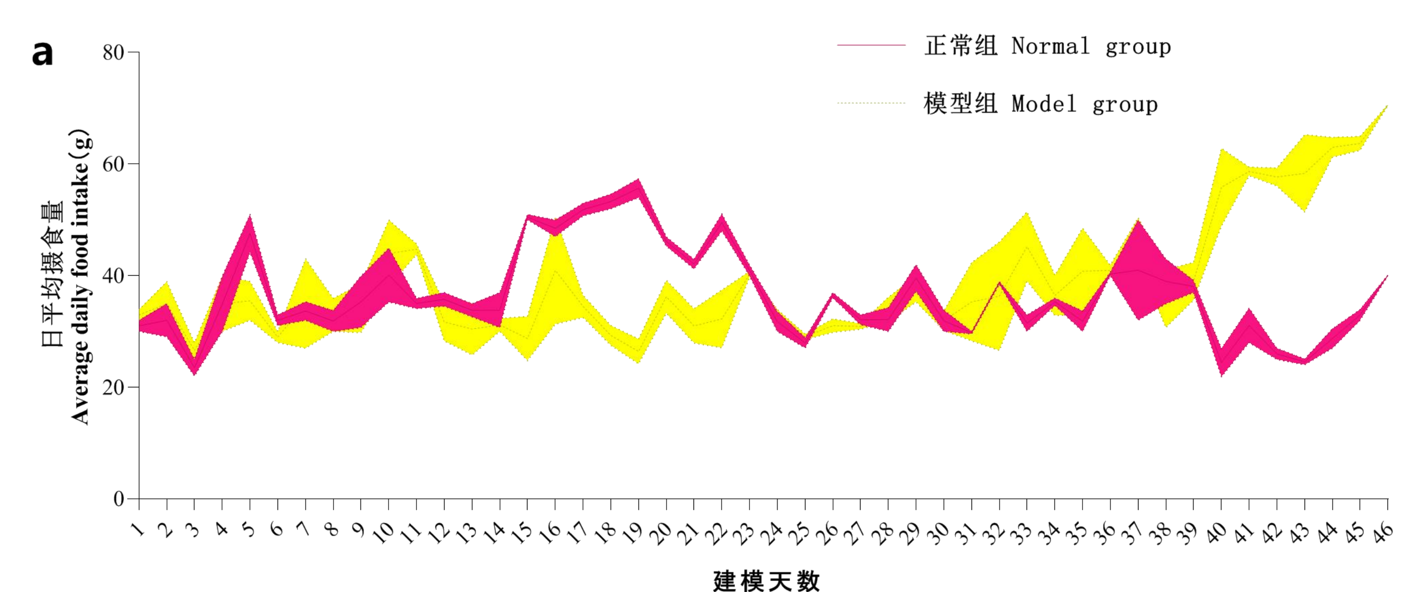
图 3 RTIDF 对 a-淀粉酶的抑制率

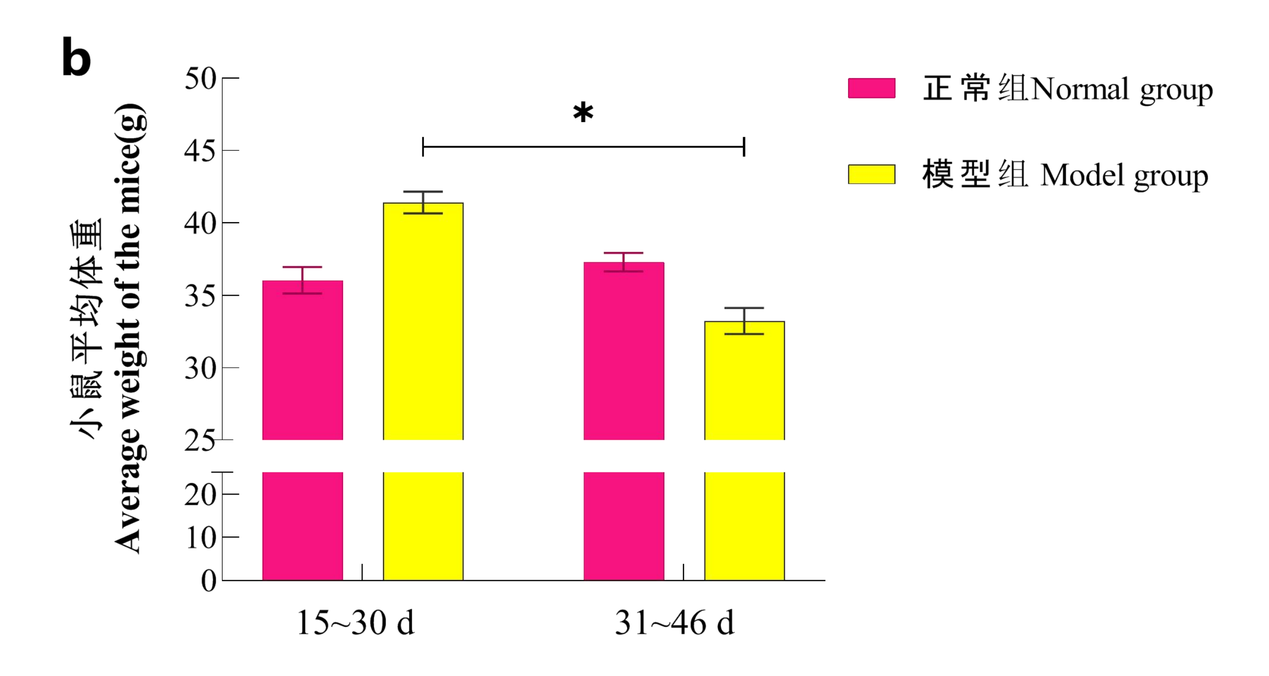
Fig.3 Inhibition rate of RTIDF on α-amylase

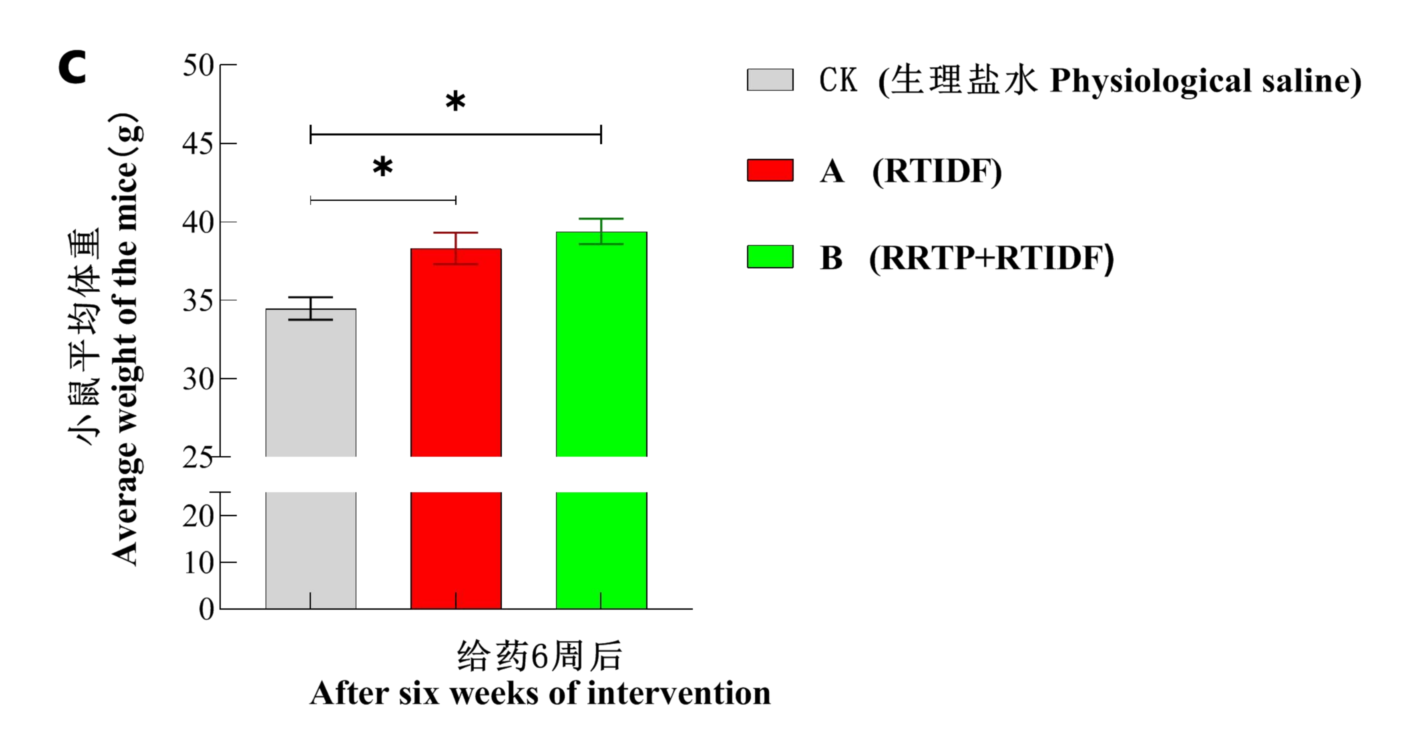
2.3 糖尿病小鼠的营养干预

2.3.1 干预前后小鼠体重体征的变化情况

建模过程中与正常组相比，模型组小鼠日平均摄食量呈现递增趋势（Fig.4.a），其体重在 15~30 d 显著高于正常组，但 31~46 d，模型组小鼠逐渐消瘦，较正常组体重下降约 16.67%，并开始出现活动减少、毛色泛黄、大便黏稠松软、抓力弱等症状，最终体重低于正常组（Fig.4.b）；RRTP 和 RTIDF 干预后，与 CK 组（模型小鼠）相比，A 组(RTIDF)、B 组（RTIDF+RRTP）小鼠体重逐渐恢复接近正常组小鼠体重水平，行为表现正常（Fig.4.c），这表明 RRTP 和 RTIDF 的干预能改善小鼠对糖的代谢，逆转小鼠向糖尿病发展的趋势。







a. 建模过程小鼠日平均摄食量变化；**b.** 建模过程小鼠体重变化；**c.** 给药 6 周后小鼠体重变化，图中符号 *代表小组间的差异达到显著水平 (P <0.05)。

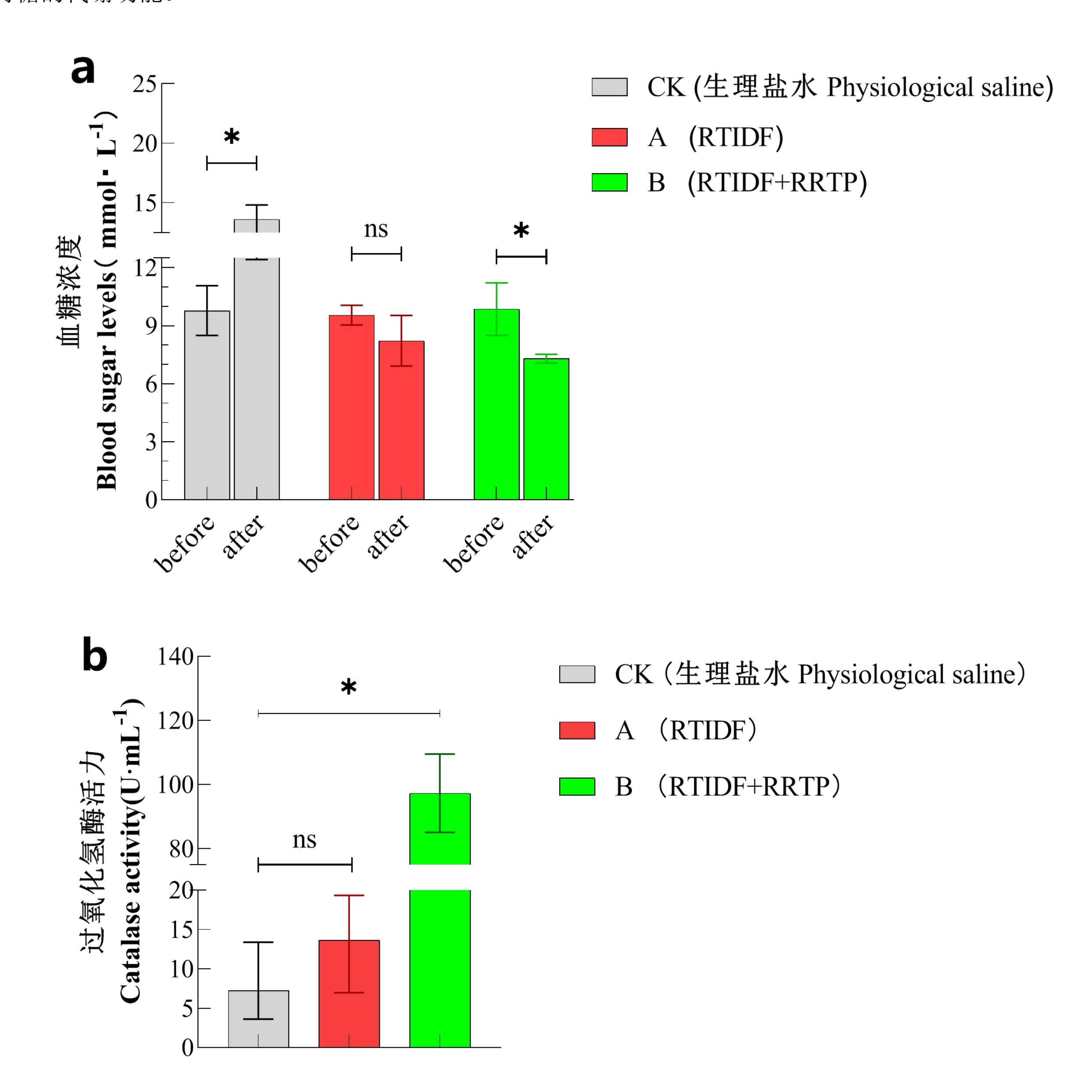
a. Changes in average daily food intake of mice during the modeling; **b.** Changes in body weight of mice during the modeling; **c.** Changes in body weight of mice six weeks after intervention. The symbol * in the figure means that the difference between groups reached a significant level (P <0.05).

图 4 实验过程小鼠体重变化

Fig.4 The body weight of mice changed during the experiment

2.3.2 RRTP 和 RTIDF 对小鼠血糖、CAT 酶活力的调节

实验期间 CK 组（模型小鼠）血糖水平显著上升，持续处在高水平，血清中 CAT 酶活力低，表现出糖尿病小鼠特征；而刺梨提取物干预后，与 CK 组相比，A 组（RTIDF）和 B 组（RTIDF+RRTP）小鼠的血糖水平显著下调，血清中 CAT 酶活力明显增强，B 组优于 A 组（Fig.5）。表明 RRTP 和 RTIDF 的干预能够有效抑制糖尿病小鼠的血糖升高，起到降血糖的作用，逆转小鼠继续向糖尿病发展的趋势；还可降低过氧化氢对脏器的毒害，改善糖尿病小鼠对糖的代谢功能。



a. 给药前后小鼠血糖的变化；**b.** 给药前后小鼠血清中 CAT 酶活力的变化，图中符号 * 代表小组间的差异达到显著水平 (P <0.05), ns 则表示差异不显著。

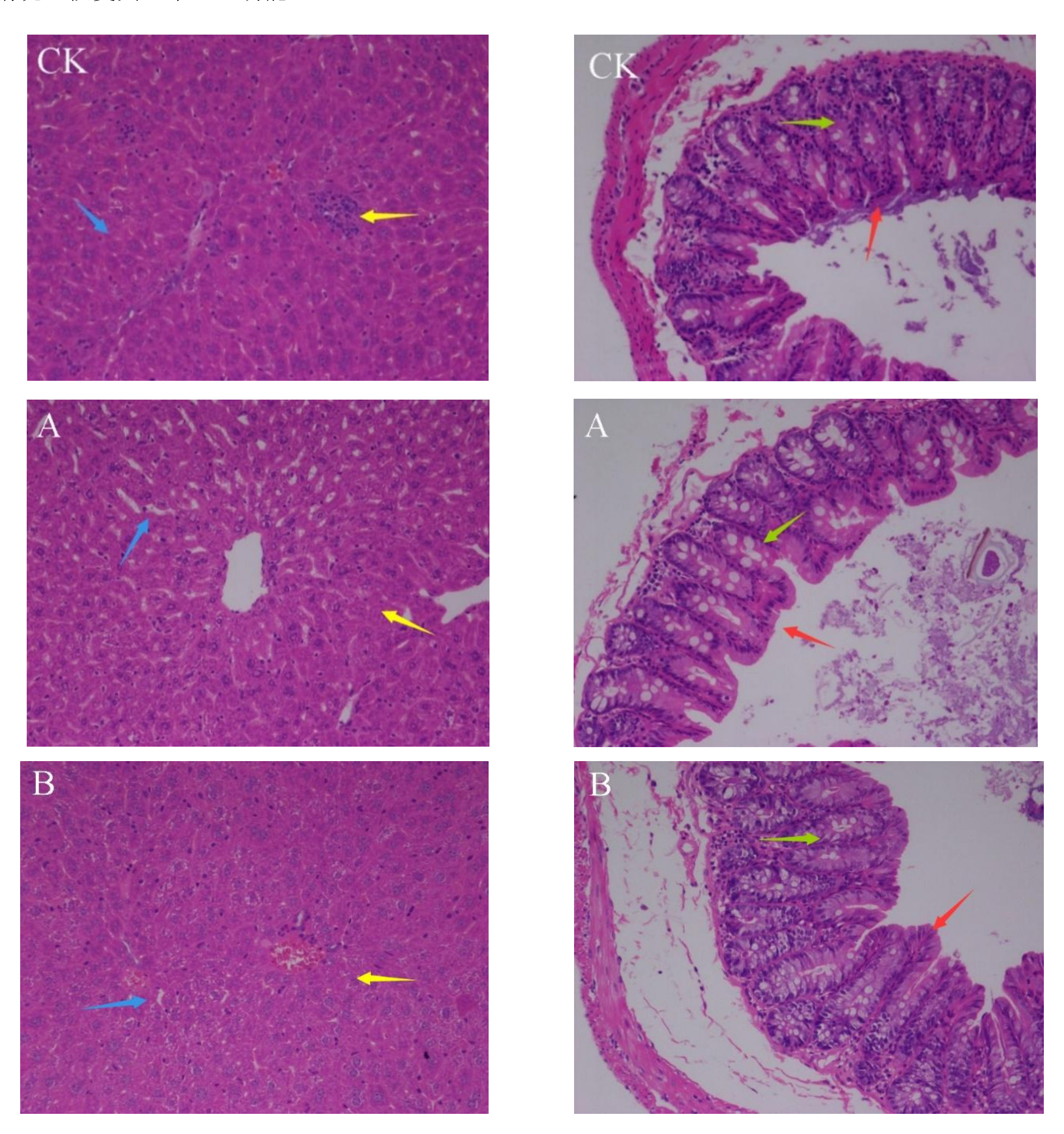
a. Changes of blood glucose in mice before and after drug administration; **b.** Changes of CAT enzyme activity in serum of mice before and after drug administration. The symbol * in the figure means that the difference between groups reached a significant level (P <0.05), and ns means that the difference is not significant.

图 5 给药前后小鼠血糖、血清中 CAT 酶活力的变化

Fig.5 Changes of blood glucose and CAT enzyme activity in mice before and after administration

2.3.3 RRTP 和 RTIDF 对糖尿病小鼠肝脏、盲肠功能的影响

灌胃 8 周后，对各组小鼠的肝脏和盲肠进行组织切片观察，与 CK 组（模型小鼠）相比，A 组（RTIDF）和 B 组（RTIDF+RRTP）小鼠肝脏细胞肿胀现象下降，细胞间隙增大，炎症因子减少，肝细胞结构相对清晰；盲肠黏膜层更为完整，吸收细胞增多，A 组优于 B 组（Fig.6）。表明 RRTP 和 RTIDF 的干预能够缓解糖尿病小鼠肝脏和盲肠的病变情况，恢复其正常生理功能。



CK. 生理盐水；**A.** RTIDF；**B.** RTIDF+RRTP；

黄色箭头表示肝脏炎症因子数量变化；**蓝色箭头**表示肝脏细胞肿胀程度变化；**红色箭头**表示盲肠黏膜完整度变化；**绿色箭头**表示盲肠吸收细胞数量变化。

CK. Physiological saline; **A.** RTIDF; **B.** RTIDF+RRTP;

Yellow arrow represents changes in the number of inflammatory factors in the liver; **Blue arrow** represents the change of swelling degree of liver cells; Red arrow represents changes in cecal mucosa integrity; **Green arrow** represents changes in the number of absorbing cells in the cecum.

图 6 小鼠肝脏、盲肠组织切片观察

Fig.6 Liver and cecum tissue sections of mice were observed

2.4 RRTP 和 RTIDF 对糖尿病小鼠肠道菌群的影响

2.4.1 测序序列和 OTU 聚类结果

本研究通过 OUT 的 Venn 分析对不同处理组间 OUT 的组成相似性以及重叠性进行研究（Fig.7）， CK 组（模型小鼠）与 A 组（RTIDF）和 B 组（RTIDF+RRTP）分别共享了 887 和 1196 个 OUT，CK 组、A 组和 B 组分别独有 75、134 和 61 个 OUT，这表明刺梨多糖粗提物的干预显著影响了小鼠原有肠道菌群的组成，相比较而言，A 组与 CK 组的差异更大。

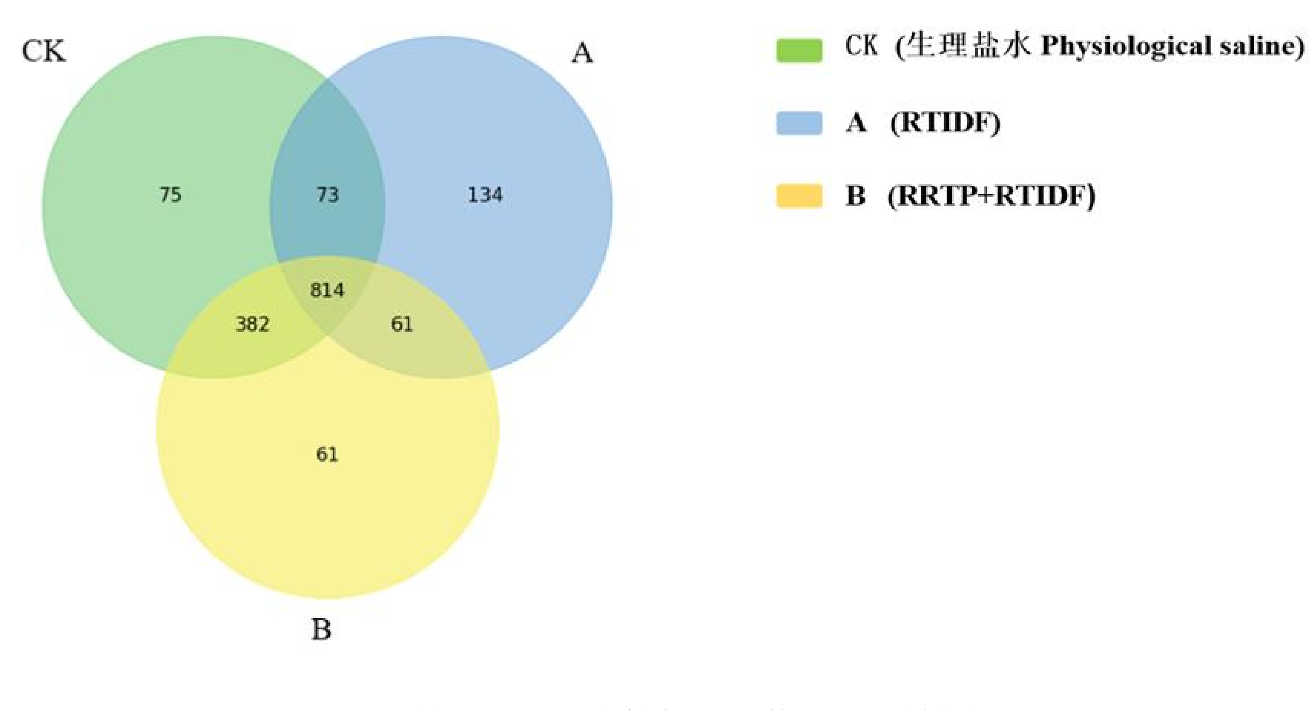


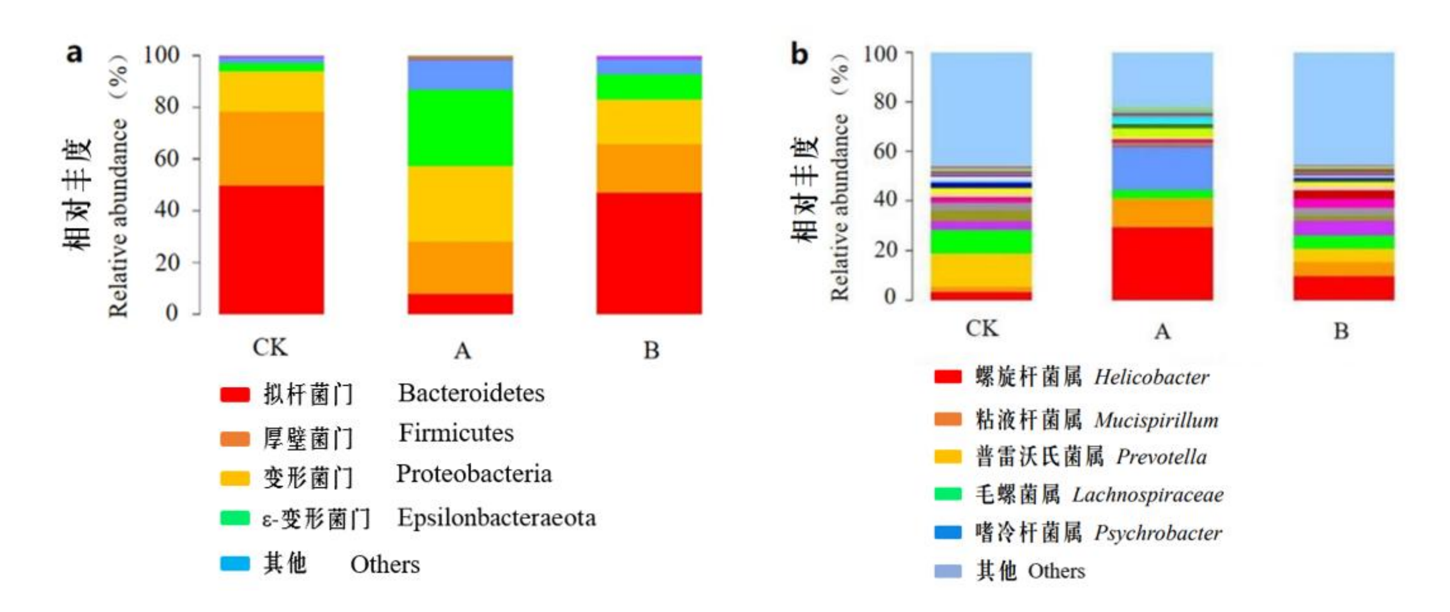
图 7 不同处理组样本 OTU 的 Venen 分析图

Fig.7 Venen analysis diagram of OTU samples in different treatment groups

2.4.2 RRTP 和 RTIDF 对小鼠肠道微生物群落组成的影响

2.4.2.1 群落结构分析

在门水平上（Fig.8：a），与 CK 组（模型小鼠）相比，A 组（RTIDF）厚壁杆菌门（Firmicutes）相对丰度明显降低，ε-变形菌门（Epsilonbacteraeota）相对丰度显著升高，拟杆菌门（Bacteroidetes）相对丰度降低极为显著;B 组（RTIDF+RRTP）厚壁杆菌门（Firmicutes）和拟杆菌门（Bacteroidetes）的相对丰度比值也显著降低。在属水平上（Fig.8：b），与 CK 组相比，A 组螺旋杆菌属（*Helicobacter*）、粘液杆菌属（*Mucispirillum*）和嗜冷杆菌属（*Psychrobacter*）相对丰度显著升高，而毛螺菌属（*Lachnospiraceae*）、普雷沃氏菌属（*Prevotella*）相对丰度显著降低；B 组螺旋杆菌属（*Helicobacter*）、普雷沃氏菌属（*Prevotella*)、理研菌属（*Rikenellaceae*）相对丰度显著升高，而毛螺菌属（*Lachnospiraceae*）和普雷沃氏菌属（*Prevotella*）的相对丰度显著降低。



CK. 生理盐水；**A.** RTIDF；**B.** RTIDF+RRTP；**a.** 门水平上的微生物群落结构分析；**b.** 属水平上的微生物群落结构分析。

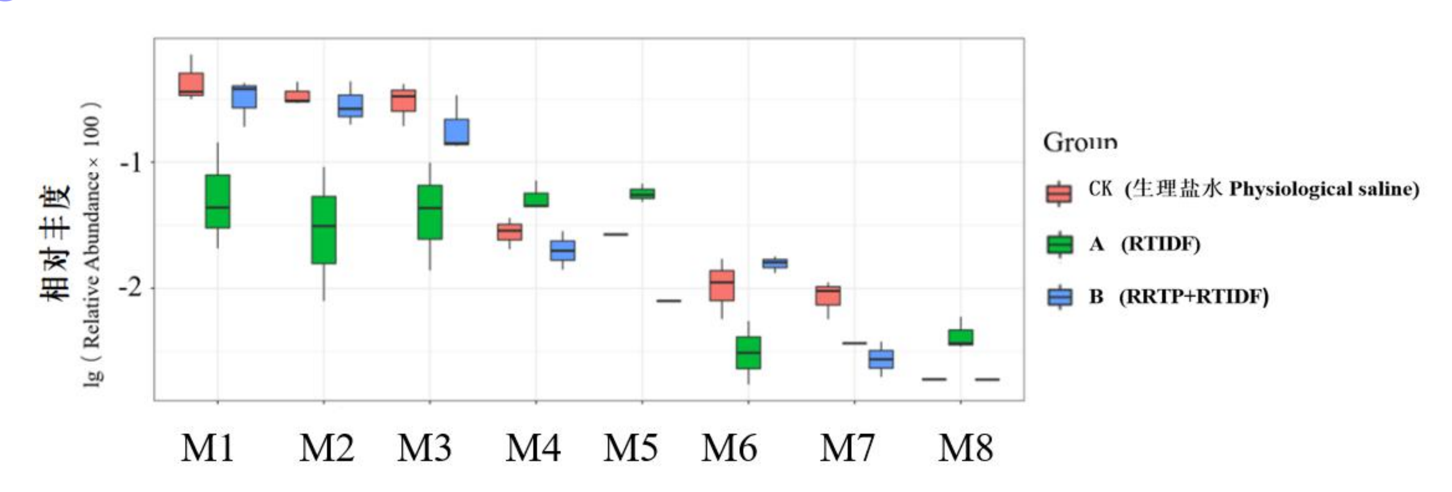
CK. Physiological saline; **A.** RTIDF; **B.** RTIDF+RRTP；**a.** Analysis of microbial community structure at phylum level; **b.** Analysis of microbial community structure at the genus level.

图 8 小鼠肠道微生物群落结构分析

Fig.8 Analysis of intestinal microbial community structure in mice

2.4.2.2 差异物种分析

在属水平上（Fig.9），与 CK 组（模型小鼠）相比，RRTP 和 RTIDF 的干预使小鼠肠道菌群物种发生极大差异变化，表现在：理研菌属（*Rikenellaceae*）、普雷沃氏菌属（*Prevotella*）、*Prevotella_9*、假单胞菌属（*Pseudomonas*）、醋酸杆菌属（*Acetobacter*）、韧皮部杆菌属（*Candidatus*）、乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）的相对丰度明显升高，但瘤胃菌属(*Ruminiclostridium*)、*Ruminiclostridium_9*、*Ruminiclostridium_NK4A214_group*、颤螺旋菌属（*Oscillibacter*）、真杆菌属（*Eubacterium*）、*Eubacterium_brachy_group* 的相对丰度显著降低。这表明 RRTP 和 RTIDF 可以调节糖尿病小鼠的肠道菌群组成，改善菌群结构。



M1. 瘤胃菌属；**M2.** 瘤胃菌属；**M3.** 颤螺旋菌属；**M4.** 假单胞菌属；**M5.** 醋酸杆菌属；**M6.** 瘤胃菌属；**M7.** 真杆菌属；**M8.** 韧皮部杆菌属。

M1. *Ruminclostridium*; **M2.** *Ruminclostridium*; **M3.** *Qscillibacter*; **M4.** *Pseudomonas*; **M5.** *Acetobacter*; **M6.** *Ruminclostridium_NK4A214_group*; **M7.** *Eubacterrium*; **M8.** *Candidans*.

图 9　小鼠肠道微生物差异物种分析

Fig.9 Analysis of different species of intestinal microbe in mice

与 CK 组（模型小鼠）相比，RRTP 和 RTIDF 的干预显著提高了糖尿病小鼠肠道微生物组成中 *Lactobacillaceae*、*Prevotella*、*Lactobacillus* 等有益菌的丰度，从而提高肠道免疫力并改善肥胖导致的组织炎症和氧化应激状态；RRTP 和 RTIDF 的干预还降低了 *Enterocaccaceae*、*Desulfovibrionaceae* 等有害菌的丰度，发挥降血糖和抗炎作用。这些结果表明刺梨多糖提取物的降血糖作用可能与其对糖尿病小鼠肠道微生物的调控有关。

3 讨论

RRTP 在体外表现出一定的抗氧化活性，能对 DPPH·起到明显的清除能力，具备一定的 Fe^{3+}还原力（陈庆等，2019；付阳洋等，2021）。本研究中，随 RRTP 样品浓度升高，对 DPPH·的清除率逐渐增强，同样表现出一定的还原能力，与其研究结果一致。

α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶是促进淀粉消化吸收的关键酶，天然多糖提取物可通过抑制其活性而抑制糖尿病人餐后血糖的迅速上升（潘玥等，2022）。本研究中，体外实验发现 RRTP 有较好的自由基清除力, 能对α-葡萄糖苷酶、α-淀粉酶起显著抑制作用，IC_{50} 分别为 0.293、4.251 mg·mL^{-1}，而 RTIDF 仅表现对α-淀粉酶活性具有一定的抑制活性，这可能是由于 RRTP 与 RTIDF 降血糖的机理不同，RRTP 可能主要是通过抑制血糖调节有关酶的活性从而降低血糖水平，而 RTIDF 可能通过调节肠道菌群结构等方式进行血糖干预（夏洁，2020）。

通过糖尿病小鼠的体内干预实验发现，RRTP 和 RTIDF 干预后，与 CK 组（模型小鼠）相比，A 组(RTIDF)、B 组（RTIDF+RRTP）小鼠体重逐渐恢复接近正常组小鼠体重水平，且 B 组优于 A 组，这表明 RRTP 和 RTIDF 的干预能改善小鼠对糖的代谢，逆转小鼠向糖尿病发展的趋势，RRTP 和 RTIDF 之间存在一定的协同调节作用（汪磊，2019）；分析血糖与血清中 CAT 酶活力发现，实验期间 CK 组（模型小鼠）血糖水平显著上升，持续处在高水平，血清中 CAT 酶活力低，表现出糖尿病小鼠特征，而 RRTP 和 RTIDF 干预后，与 CK 组相比，A 组（RTIDF）和 B 组（RTIDF+RRTP）小鼠的血糖水平显著下调，血糖平衡能力显著升高，血清中 CAT 酶活力明显增强，B 组优于 A 组，同样表明 RRTP 和 RTIDF 的干预能够有效抑制糖尿病小鼠的血糖升高，起到降血糖的作用，逆转小鼠继续向糖尿病发展的趋势（杨江涛, 2008），还可降低过氧化氢对脏器的毒害，改善糖尿病小鼠对糖的代谢功能，RRTP 和 RTIDF 之间表现出明显的协同作用。进一步分析肠道菌群发现，RTIDF、RRTP 可降低拟杆菌门与厚壁菌门的比例，增加醋酸杆菌等有益菌的种群丰度，但 RTIDF 对于种群的调节作用更加显著，没有表现出良好的协同作用，这可能是因为 RRTP 在小鼠肠道中不能发挥全部活性，有部分多糖失活，而 RTIDF 仍能表现出较强活性。

4 结论

RRTP 和 RTIDF 可以改善糖尿病小鼠对糖的代谢功能，显著降低糖尿病小鼠血糖血脂水平，提高糖尿病小鼠血清中 CAT 酶的活性，还可以降低了肝脏的炎症因子水平，缓解细胞肿胀程度，增加盲肠的吸收细胞，使黏膜更加完整，从而改善机体的消化吸收和代谢功能；RRTP 和 RTIDF 降低了小鼠肠道中拟杆菌门和厚壁菌门的比值，

提高了小鼠肠道中 *Bacteroidaceae*、*Bacteroidaceae_S24-7_group* 和 *Lactobacillaceae* 等有益菌的丰度，降低了 *Enterocaccaceae*、*Desulfovibrionaceae* 等有害菌的丰度。综合体外降糖模拟与体内干预结果，RRTP 与 RTIDF 在糖尿病小鼠的血糖干预中具有一定的协同作用，或可共同作为改善 II 型糖尿病的干预剂。

参考文献：

CAI WC, ZHOU BX, JIANG CL, et al., 2014. Extraction process of insoluble dietary fiber from orange peel residue [J]. Sci Technol Food Ind, 35(16): 253-256. [蔡卫超，周炳贤，江春立，等，2014. 橘皮残渣中水不溶性膳食纤维提取工艺研究 [J]. 食品工业科技，35(16): 253-256.]

CHEN LH, CAO KS, PENG QL, et al., 2015. Influence on the Activity of α-glucosidase by Water-soluble Polysaccharide Form Five Kinds of Chinese Herbal [J]. Contemp Chem Ind, 44(1): 21-23+26. [陈丽华，曹可生，彭勤龙，等，2015. 五种中草药水溶性多糖对α-葡萄糖苷酶活性的影响 [J]. 当代化工, 44(1): 21-23+26.]

CHEN Q, LI C, HUANG T, et al., 2019. Physicochemical characterization, *in vitro* antioxidant and *α*-glucosidase inhibitory activity eolysaccharides from *Rosa sterilis* fruit [J]. Mod Food Sci Technol, 35(11): 114-119+253. [陈庆, 李超, 黄婷, 等，2019. 刺梨多糖的理化性质、体外抗氧化和α-葡萄糖苷酶抑制活性 [J]. 现代食品科技, 35(11): 114-119+253.]

FENG YR, LIU W, YANG JG, 2019. Preparation of carboxymethylated pachyman with different molecular weight and study on its antioxidative activity [J]. Chin Food Adds, 30(3): 67-74. [冯燕茹, 刘玮, 杨继国, 2019. 不同分子量羧甲基茯苓多糖的制备及其抗氧化活性的研究 [J]. 中国食品添加剂，30(3): 67-74.]

FU YY, YANG M, TANG LY, et al., 2021. Optimization of extraction process by response surface methodology and antioxidant activity of *Rose sterilis S. D. Shi* polysaccharides [J]. Food Ferm Sci Technol, 57(2): 66-72. [付阳洋, 杨敏, 汤陆扬, 等，2021. 回应面优化无籽刺梨多糖提取工艺及抗氧化活性研究 [J]. 食品与发酵科技, 57(2): 66-72.]

LIU QL, FAN WG, AN HM, 2005. Studies on the extraction of water-soluble polysaccharides and total flavone from Rosa rox-burgh ii leaves [J]. J Mountain Agric Biol, 1(6): 522-526. [刘庆林，樊卫国，安华明，2005. 刺梨叶片中总黄酮和水溶性多糖的提取工艺 [J]. 山地农业生物学报，1(6): 522-526.]

LIU T, ZHANG J, ZHAO JN, 2021. Circulating markers in supervision of exercise intervention of type 2 Diabetes Mellitus [J]. Sports Sci Res, 25(2): 63-69. [刘涛，张娟，赵嘉妮，2021. 2 型糖尿病患者运动干预监控的血液指标综述 [J]. 体育科学研究，25(2): 63-69.]

LUAN D, 2020. Isolation and hypoglycemic mechanism effect of polysacchaide from *Brasenia Schreberi* [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology. [栾迪, 2020. 莼菜体外胶多糖降血糖组分分离及其降血糖机理研究 [D]. 杭州：浙江工业大学.]

PAN Q, HAN J, YU JD, et al., 2010. Research on characteristic and syndrome of diabetic rat models induced by streptozotocin [J]. Chin J Trad Chin Med Pharm, 25(10): 1644-1647. [潘秋, 韩静, 余俊达, 等，2010. STZ 诱发性糖尿病大鼠表征及其证候特征研究 [J]. 中华中医药杂志, 25(10): 1644-1647.]

PAN Y, LIU XL, WANG Y, et al., 2022. Inhibitory effect of polyphenols from blueberry leaves on the activity of *α*-amylase and *α*-glucosidase *in vitro* [J]. Nat Prod Res Dev, 34(4): 579-587. [潘玥, 刘小莉, 王英, 等，2022. 蓝莓叶多酚对α-淀粉酶和α-葡萄糖苷酶的体外抑制活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 34(4): 579-587.]

SONG S, LIU Q, YIN ZX, et al., 2014. Study on ultrasonic extraction of seed watermelon polysaccharides and evaluation of its molecular weight and antioxidant activity [J]. Sci Technol Food Ind, 35(10): 269-274. [宋珅, 刘琴, 殷振雄, 等，

2014. 籽瓜多糖的超声波辅助提取工艺、分子量和抗氧化活性研究［J］. 食品工业科技, 35(10): 269-274.］

TU J, 2015. Screening of a-Glucosidase inhibitors from wheat bran and it's intervention on type 2 diabetes Mellitus［D］. Zhenjiang: Jiangsu university.［屠洁, 2015. 小麦麸皮α-葡萄糖苷酶抑制剂的筛选及其对 2 型糖尿病的干预［D］. 镇江：江苏大学.］

WANG L, 2019. Isolation, purification and hypoglycemic activity of polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit and their effect on gut microflora［D］. Guangzhou: South China University of Technology.［汪磊，2019. 刺梨多糖的分离纯化、降血糖作用及其对肠道微生态的影响［D］. 广州：华南理工大学.］

WANG LX, LIU MZ, WANG F, et al., 2019. Study on extraction and antioxidant activity of polysaccharides from Dendrobium candidum［J］. Chin Food Add, 30(2): 85-90.［王丽霞, 刘孟宗, 王芳, 等，2019. 铁皮石斛多糖提取及抗氧化活性研究［J］. 中国食品添加剂, 30(2): 85-90.］

WANG XF, LI JY, TANG WT, et al., 2019. Study on technological optimization and difference of extraction of *Lentinus edodes* dietary fiber by alkali extraction and enzymatic hydrolysis［J］. J Hunan Univ Chin Med, 39(12): 1525-1528.［王曦璠，李家宇，汤婉婷，等，2019. 碱提法、酶解法提取香菇膳食纤维的工艺优化及差异性研究［J］. 湖南中医药大学学报, 39(12): 1525-1528.］

WANG YW, WANG JX, 2020. Hypoglycemic and lipid-lowering effects of polysaccharides from *Dendrobium officinale* Stems in Type 2 Diabetic Mice［J］. Food Sci, 41(21): 127-132.［王云威, 王景雪, 2020. 铁皮石斛多糖对 2 型糖尿病小鼠降糖降脂的作用［J］. 食品科学, 41(21): 127-132.］

WANG ZW, ZHENG LJ, 2021. Research progress on extraction purification and biological activity of prickly pear polysaccharide［J］. Agric Technol Equip，1(11): 105-107.［王振伟，郑黎静，2021. 刺梨多糖的提取纯化及生物活性研究进展［J］. 农业技术与装备, 1(11): 105-107.］

XIA J, 2020. Study on extraction, structural characterization and *in vitro* fermentation of insoluble dietary fiber from *Rosa roxburghii* Tratt fruit［D］. Guangzhou: South China University of Technology.［夏洁，2020. 刺梨果渣水不溶性膳食纤维的制备、结构表征及其体外发酵特性研究［D］. 广州：华南理工大学.］

XU LL, CHENG WK, ZHOU XL, 2021. Regulatory effect of Pu-erh tea polysaccharide on short-chain fatty acid metabolism and gut microbiota in mice［J］. Food Ferment Ind, 47(21): 115-122.［许凌凌, 程旺开, 周小楠, 2021. 普洱茶多糖对健康小鼠短链脂肪酸代谢与肠道菌群组成的调节作用［J］. 食品与发酵工业, 47(21): 115-122.］

YANG J, YANG FM, SUN QY, 2006. Study on isolation and neurotrophic activity of polysaccharides from *Rosa roxburghii*［J］. Chin Pharmaceut J, 1(13): 980-982.［杨娟，杨付梅，孙黔云，2006. 刺梨多糖的分离纯化及其神经营养活性［J］. 中国药学杂志，1(13): 980-982.］

YANG JT, 2008. Isolation and purification, physicochemical properties and biological activity of roxburgh rose polysaccharide［D］. Guiyang: Guizhou university.［杨江涛，2008. 刺梨多糖分离纯化、理化性质及生物活性研究［D］. 贵阳：贵州大学.］

ZHANG P, WANG L, CHEN J, et al., 2022. Effects of Rosa roxburghii Tratt polysaccharide on ileal mucosal barrier function in mice with non-alcoholic fatty liver［J/OL］. Food Science: 1-20.［张潘，汪磊，陈洁，等，2022. 刺梨多糖对非酒精性脂肪肝小鼠回肠粘膜屏障功能的影响［J/OL］. 食品科学：1-20.］

ZHANG X, LI LL, YANG J, et al., 2021. Study on the moistening and laxative function of dietary fiber from fermented

Roxburgh Rose Pomace [J]. Food Ferment SciTechnol，57(2): 30-34. [张想，李立郎，杨娟，等，2021. 发酵刺梨果渣膳食纤维润肠通便功能研究[J]. 食品与发酵科技，57(2): 30-34.]

ZHAO GH, ZHANG RF, DONG LH, et al., 2021. Research progress on insoluble dietary fiber in regulating lipid metabolism [J]. J Chin Instit Food Sci Technol, 21(11): 319-328. [赵广河，张瑞芬，董丽红，等，2021. 不溶性膳食纤维调节脂质代谢研究进展[J]. 中国食品学报，21(11): 319-328.]

ZHENG JX, 2020. Structural and functional properties of dietary fiber from chestnut rose residue modified by steam explosion [D]. Beijing: Beijing Forestry University. [郑佳欣, 2020. 刺梨渣膳食纤维蒸汽爆破改性及结构、功能性质研究[D]. 北京：北京林业大学.]

ZHOU XL, LU Y, SONG KL, et al., 2019. Optimization of polysaccharide from *Rosa roxburghii Tratt* Pomace by fermentation and its antioxidant activity [J]. Food Res Dev，40(14): 24-29. [周笑犁，卢颖，朱坤珑，等，2019. 刺梨果渣多糖的发酵制备工艺优化及其抗氧化活性研究 [J]. 食品研究与开发，40(14): 24-29.]

ZHOU XL, YANG QM, KONG YQ, et al., 2020. Inhibitory effect of Polysaccharides from *Rosa Roxburghii* Tratt on activity of α-Amylase [J]. Food Sci Technol, 45(10): 207-212. [周笑犁，阳桥美，孔艳秋，等，2020. 刺梨果渣多糖对α-淀粉酶活性的抑制作用[J]. 食品科技，45(10): 207-212.]